

TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF NON-NATIVE WINE GRAPES GROWN IN ZACATECAS, MEXICO

CONTENIDO DE FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UVAS NO NATIVAS PARA VINO CULTIVADAS EN ZACATECAS, MEXICO

Ambrosio Franco-Bañuelos¹, Cristina S. Contreras-Martínez², José Carranza-Téllez³, José Carranza-Concha^{2*}

¹Facultad de Agronomía; ²Departamento de Nutrición; ³Facultad de Ciencias Químicas, Programa de Químico en Alimentos. Universidad Autónoma de Zacatecas. 98160. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6. Ejido "La Escondida", Zacatecas, Zacatecas, México. (joseconcha10@hotmail.com).

ABSTRACT

The production of non-native wine grapes (*Vitis vinifera* L.) in Zacatecas, Mexico has increased in recent years; however, information about their chemical composition is not yet available. Polyphenols are associated with the antioxidant capacity of grapes due to their beneficial health effects. Therefore, the aim of this study was to evaluate the total phenolic content (TPC) and the antioxidant capacity (AC) of non-native wine grapes grown in Zacatecas, México. The AC and TPC of 4 white grape varieties and 4 red grape varieties were analyzed. Experimental design was completely randomized with three replications and the data was analyzed using ANOVA and compared with Tukey test ($p \leq 0.05$). Pearson's correlation and linear regression were calculated for the TPC and the AC. Total phenolic content was significantly higher in red varieties of *Rubired* and white varieties of *Furmint*. The AC (using the ABTS method) was significantly correlated with the TPC ($R^2 = 0.8304$). Red grape varieties, *Petite Syrah* and *Rubired* had a significant ($p \leq 0.05$) higher antioxidant potential which is associated with their higher content of bioactive compounds. The values obtained in this study show that wine grapes with a high functional content can be harvested in the state of Zacatecas, non-native varieties resulted in higher capacities than the values reported in the country of origin for each respective variety.

Key words: wine grape cultivars, phytochemicals, antioxidant activity.

RESUMEN

La producción en Zacatecas, México, de uvas (*Vitis vinifera* L.) no autóctonas para vino ha aumentado en los últimos años, pero no hay información de su composición química. Los polifenoles de las uvas se asocian con efectos beneficiosos en la salud debido a su capacidad antioxidante. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el contenido de fenoles totales (TPC) y la capacidad antioxidante (AC) de las uvas no nativas para vino cultivadas en Zacatecas, México. El AC y el TPC de cuatro variedades de uva blanca y cuatro de uva roja se evaluaron. El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones y los datos se analizaron con ANDEVA y se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). La correlación de Pearson y la regresión lineal se calcularon para TPC y AC. El TPC fue significativamente mayor en las variedades rojas *Rubired* y las blancas *Furmint*. La AC (con el método ABTS) tuvo correlación significativa con TPC ($R^2 = 0.8304$). Las variedades *Petite Syrah* y *Rubired* de uva roja, tuvieron potencial antioxidante significativo ($p \leq 0.05$) alto y estuvo asociado con su contenido alto de compuestos bioactivos. Los valores obtenidos en este estudio muestran que las uvas para vino con contenido funcional alto pueden cosecharse en el estado de Zacatecas, las variedades no autóctonas tuvieron capacidades mayores que los valores reportados en el país de origen para cada variedad respectiva.

Palabras clave: cultivares de uva para vino, fitoquímicos, actividad antioxidante.

INTRODUCCIÓN

La uva (*Vitis vinifera* L.) es uno de los principales cultivos frutícolas en el mundo, con muchos cultivares que varían en características como sabor y color, con o sin semillas, asociadas al

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: octubre, 2016. Aprobado: mayo, 2017.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 51: 661-671. 2017.

INTRODUCTION

Grape (*Vitis vinifera* L.) is a major fruit crop in the world with many cultivars varying in characteristics, such as flavor and colour, with or without seeds, which are associated to the content of phenolic compounds and consequently with antioxidant capacity. Grapes are one of the major sources of phenolic compounds, as compared with other fruits and vegetables (Mulero *et al.*, 2015). Phenolic compounds are an integral part of the human diet and are considered to be non-nutrients with biologically active compounds (Subramani *et al.*, 2002; Mulero *et al.*, 2015) and they constitute one of the most numerous and widely distributed groups of natural products in the plant kingdom. They play a very important role in the composition of grapes and wines, contributing to principal sensory properties, such as colour, astringency and bitterness (Puértolas *et al.*, 2010). These compounds were identified and quantified in several fruits and vegetables, and show a high correlation with antioxidant activity (Soares, 2002; Einbond *et al.*, 2004). Polyphenols are classified into two main groups: non-flavonoids (hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids and their derivatives, stilbenes and phenolic alcohols) and flavonoids (anthocyanins, flavanols, flavonols and dihydroflavonols) (Fanzone *et al.*, 2012).

Biological properties of polyphenols are attributed to their powerful antioxidant, metal chelating and antiradical activities (Wu *et al.*, 2010; Šeruga *et al.*, 2011). Also, phenolic compounds reduce the risk of chronic diseases, eliminating free radicals that induce vascular relaxation, and they exhibit anti-inflammatory, anti-cancer, antiviral and antibacterial properties (Gris *et al.*, 2011).

Most of the data available in literature sources on phenolic composition and antioxidant activity of grapes stem from varieties produced in France, Italy, Spain, USA, Turkey, Chile, Brazil and Argentina. In Mexico, 75 % of grape production is allotted for grapes, 22 % goes towards wine production, juices and jams and 3 % for raisin production. In 2012, Sonora produced 80 % of all grapes in Mexico whereas Zacatecas followed in second place with 7.8 %; however, there is little information about nutritional content, total phenolic content and antioxidant activity of grapes produced in Zacatecas.

contenido de compuestos fenólicos y a su capacidad antioxidante. Las uvas son una de las principales fuentes de compuestos fenólicos en comparación con otras frutas y hortalizas (Mulero *et al.*, 2015). Los compuestos fenólicos son una parte integral de la dieta humana y se consideran compuestos biológicamente activos que no son nutrientes (Subramani *et al.*, 2002, Mulero *et al.*, 2015) y constituyen uno de los grupos más numeroso y distribuido ampliamente de los productos naturales del reino vegetal. Ellos tienen una función muy importante en la composición de las uvas y los vinos, y contribuyen a las principales propiedades sensoriales, como color, astringencia y amargor (Puértolas *et al.*, 2010). Estos compuestos se identificaron y cuantificaron en frutos y vegetales, y muestran correlación alta con la actividad antioxidante (Soares, 2002; Einbond *et al.*, 2004). Los polifenoles se clasifican en dos grupos principales: los no-flavonoides (ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinámico y sus derivados, estilbenos y alcoholes fenólicos) y flavonoides (antocianinas, flavanoles, flavonoles y dihidroflavonoles) (Fanzone *et al.*, 2012).

Las propiedades biológicas de los polifenoles se atribuyen a su potente actividad antioxidante, quelante de metal y antiradical (Wu *et al.*, 2010; Šeruga *et al.*, 2011). También, los compuestos fenólicos reducen el riesgo de enfermedades crónicas, eliminan los radicales libres que inducen la relajación vascular, y tienen propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antivirales y bactericidas (Gris *et al.*, 2011).

La mayoría de los datos en la literatura sobre la composición fenólica y la actividad antioxidante de las uvas corresponde a variedades producidas en Francia, Italia, España, EUA, Turquía, Chile, Brasil y Argentina. En México, 75 % de la producción se consume como uva, 22 % es para la producción de vino, jugos y mermeladas y 3 % es para la producción de pasas. En 2012, Sonora produjo 80 % del total de las uvas en México y Zacatecas se ubicó en segundo lugar con 7.8 %; pero la información del contenido nutricional y de fenoles totales y la actividad antioxidante de las uvas producidas en Zacatecas es escasa. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de las variedades no autóctonas producidas en el Departamento de Agricultura de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

Mexico. Therefore, the objective of this study was to determine the total phenolic content and antioxidant activity of nonnative wine grape varieties produced in the Department of Agriculture, Autonomous University of Zacatecas.

MATERIALS AND METHODS

Raw material

White grape varieties of *Furmint*, *Palomino*, *Semillon*, *Sauvignon Vert*, and red grape varieties *Cabernet Sauvignon*, *Merlot*, *Rubired* and *Petite Syrah* were harvested and used for the experiments. The plantation design allowed 3 m of separation between rows and 1.5 m between plants, with a density of 2600 plants per unit of production. Besides, a system of bilateral cordon allowed optimal sun exposure. This plantation design was used for both red and white varieties. The growing season began in March 2015 and ended in August 2015. All grapes were stored in a refrigerator (up to 12 h), were rinsed with distilled water and dried with paper towels before handling.

Analysis

All samples were analyzed for moisture content (AOAC, 2013, 1997), and soluble solids of the liquid phase of the samples (°Brix) at 20 °C (refractometer Atago NAR-3T, Tokyo, Japan). The pH was measured with a digital pH meter (Denver instruments pH Meter TP 214, Germany). Total acidity was measured by potentiometric titration with NaOH (0.1 N) and expressed in mg of the main acid (tartaric acid, TA) (AOAC, 1997).

Extraction of phenolic compounds

Phenolic compounds were extracted (Tomás-Barberán *et al.*, 2001) by homogenizing 35 g of the grape sample for 10 min with 40 mL of methanol, 10 mL of HCl 6N and 2 mg of NaF to inactivate the polyphenol oxidases and prevent phenolic degradation. After extraction, the mixture was centrifuged (2701 x g; 4 °C) for 10 min. The supernatant obtained was stored (24 h) in opaque vials at 4 °C until analyzed.

Determination of total phenolic content (TPC)

Total phenolic content (TPC) was quantified using the Folin-Ciocalteu test (Li *et al.*, 2006); 250 μ L of extract was mixed with 15 mL deionized water and 1.25 mL of Folin-Ciocalteu phenol reagent. After 5 min 3.75 mL of Na₂CO₃

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Uva blanca de las variedades Furmint, Palomino, Semillon y Sauvignon Vert y variedades rojas Cabernet Sauvignon, Merlot, Rubired y Petite Syrah se cosecharon para el estudio. El diseño de la plantación permitió 3 m de separación entre filas y 1.5 m entre plantas, la densidad fue de 2600 plantas por unidad de producción. Además, un sistema de cordón bilateral permitió exposición óptima al sol. Este diseño de la plantación se utilizó para las variedades rojas y blancas. La temporada de cultivo inició en marzo y finalizó en agosto de 2015. Todas las uvas se almacenaron en refrigeración (hasta 12 h), se enjuagaron con agua destilada y se secaron con toallas de papel antes de las evaluaciones.

Análisis

En las muestras se determinó el contenido de humedad (AOAC, 1997, 2013) y de sólidos solubles de la fase líquida de las muestras (°Brix) a 20 °C (refractómetro Atago NAR-3T, Tokio, Japón). El pH se midió con un pH-metro digital (Denver Instruments pH Meter TP 214, Alemania). La acidez total se midió por valoración potenciométrica con NaOH (0.1 N) y se expresó en mg del ácido principal (ácido tartárico, TA) (AOAC, 1997).

Extracción de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se extrajeron (Tomás-Barberán *et al.*, 2001) con homogenización por 10 min de 35 g de la muestra de uva, con 40 mL de metanol, 10 mL de HCl 6 N y 2 mg de NaF para inactivar las polifenol oxidasas y evitar la degradación de fenoles. Después de la extracción, la mezcla se centrifugó (2701 x g, 4 °C) por 10 min. El sobrenadante se almacenó (24 h) en viales opacos a 4 °C hasta el análisis.

Determinación del contenido de fenoles totales (TPC)

El contenido de fenoles totales (TPC) se cuantificó con la prueba Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2006); 250 μ L de extracto se mezclaron con 15 mL de agua desionizada y 1.25 mL de reactivo Folin-Ciocalteu para fenoles. Después de 5 min se añadieron 3.75 mL de Na₂CO₃ (7.5 %) y se aforaron a 25 mL con agua desionizada. La absorbancia se midió a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Termo Scientific 10S, Termo Fisher Scientific Inc, EE.UU.). Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico (mg GAE 100 g⁻¹ de uva fresca).

(7.5 %) was added and leveled to 25 mL with deionized water. Absorbance was measured at 765 nm in a spectrophotometer UV-Vis (Termo Scientific 10S, Termo Fisher Scientific Inc, USA). The results were reported as mg of gallic acid (mg GAE 100 g⁻¹ fresh grape).

Antioxidant capacity (AC) ABTS+ scavenging ability

The same extract obtained for TPC quantification was used to evaluate AC. The AC was determined through a modification of the spectrophotometric technique developed by Re *et al.* (1999), using the ABTS+ radical (Sigma) generated by 2.45 mM potassium persulfate (K₂S₂O₈). The mixture remained in the dark at room temperature (~20 °C) for 16 h before use, and then the ABTS+ solution was diluted to give an absorbance of 0.7±0.1 at 734 nm. Afterwards, 100 µL of grape extract was mixed with 900 µL of the ABTS+ diluted solution, and the absorbance was measured at 734 nm. The results were expressed as antioxidant activity equivalent to µmol units of Trolox (TEAC) 100 g⁻¹ fresh sample. All the experiments were replicated thrice.

Antioxidant capacity (AC) & DPPH scavenging activity

The method reported by Brand-Williams *et al.* (1995) was used for analyzing AC of samples, with a slight modification: 100 µL of grape extract were added to 1 mL of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) mM (3mg 100 mL⁻¹ in methanolic solution). The scavenging activity of the free radicals, using the free radical reaction DPPH, was evaluated by measuring the absorbance at 515 nm, after a 2.5 min reaction at 20 °C, in a spectrophotometer. Results were expressed as µmol equivalents of Trolox 100 g⁻¹ of fresh sample.

Experimental design and statistical analysis

Experimental design was completely randomized with three replications. All analyses were carried out in triplicate and the results expressed as mean, ± standard deviation. To determine statistically significant differences between the data of the variables in the grape varieties, a one-way ANOVA was carried out and, if significant, a Tukey test was applied (p≤0.05). The values of antioxidant activity and total phenol content were analyzed using Pearson correlation and linear regression. All statistical analyses were performed using Statgraphics® Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA).

Capacidad antioxidante (AC) + capacidad secuestrante ABTS

El mismo extracto obtenido para cuantificar TPC se usó para evaluar AC. La AC se determinó mediante modificación de la técnica espectrofotométrica desarrollada por Re *et al.* (1999), usando ABTS + radical (Sigma) generado por 2.45 mM de persulfato de potasio (K₂S₂O₈). La mezcla estuvo en oscuridad, a temperatura ambiente (~20 °C), por 16 h antes de usarla; después se diluyó la ABTS + solución, para generar absorbancia de 0.7±0.1 a 734 nm. Luego se mezclaron 100 µL de extracto de uva con 900 µL de la ABTS + disolución diluida y la absorbancia se midió a 734 nm. Los resultados se expresaron como actividad antioxidante equivalentes a unidades µmol de Trolox (TEAC) 100 g⁻¹ de muestra fresca. Todos los experimentos se reprodujeron tres veces.

Capacidad antioxidante (AC) y actividad secuestrante DPPH

El método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995) se utilizó para analizar AC de las muestras, con una modificación ligera: 100 µL de extracto de uva se añadieron a 1 mL de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) mM (3 mg 100 mL⁻¹ en solución metanólica). La actividad secuestrante de los radicales libres, utilizando la reacción de radicales libres DPPH, se evaluó con la absorbancia a 515 nm, después de 2.5 min de reacción a 20 °C, en un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron en µmol equivalentes de Trolox 100 g⁻¹ de muestra fresca.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como medias ± desviación estándar. Para determinar diferencias estadísticamente significativas entre las variedades se realizó ANDEVA unidireccional y, si era significativo, se aplicó la prueba de Tukey (p≤0.05). Los valores AC y TPC se analizaron mediante correlación de Pearson y regresión lineal. Todos los análisis estadísticos se realizaron con Statgraphics® Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La uva *Palomino* tuvo el contenido mayor de humedad y el menor valor de sólidos solubles (°Brix). Esto último debido al comportamiento

RESULTS AND DISCUSSION

The *Palomino* grape had the highest moisture content and the lowest value of soluble solids ($^{\circ}$ Brix). This was due to the reproductive behavior of the plant, tending to have less fruit per grapevine, a higher density per cluster and less seed presence per grape, resulting in a lower content in soluble solids. *Rubired* grapes had the lowest pH value and the highest titratable acidity (tartaric acid mg 100 g⁻¹) (Table 1). This was due to the lack of Heating Degree Days (HDD), and perhaps it required 7 d more to complete the intermediate production cycle. The pH indicates the strength of the acids present in the must (Blouin and Guimberteau, 2003), while acidity is the result of complex physiological processes in which respiration plays an important role *i.e.*, acids are used as metabolites for respiration during growth and maturation in some fruits (Dorey *et al.*, 2016). Other studies have attempted to link a single climatic variable to fruit acidity, *e.g.*, temperature was linked to grape acidity (Etienne *et al.*, 2013). In grapes, tartaric and malic acids constitute almost the totality of organic acids (Saxton *et al.*, 2009). According to ANOVA ($p > 0.05$), there were no significant differences in moisture content of red grape varieties. The other physicochemical variables showed significant differences ($p \leq 0.05$) for red and white grapes.

reproductivo de la planta, que tendió a tener menos fruto por vid, densidad mayor por racimo y menos semillas por uva, lo que resultó en un contenido menor de sólidos solubles. Las uvas *Rubired* tuvieron el pH menor y la acidez titulable mayor (mg de ácido tartárico 100 g⁻¹) (Cuadro 1). Esto se debió a la falta de días-grado calor (HDD) y tal vez requirió 7 d más para completar el ciclo intermedio de producción. El pH indica la fuerza de los ácidos en el mosto (Blouin y Guimberteau, 2003) y la acidez es el resultado de procesos fisiológicos complejos en los que la respiración tiene una función importante: los ácidos se usan como metabolitos para la respiración durante el crecimiento y la maduración en algunos frutos (Dorey *et al.*, 2016). Otros estudios han intentado vincular una sola variable climática con la acidez del fruto, es el caso de la temperatura que se relacionó con la acidez de la uva (Etienne *et al.*, 2013). En las uvas, los ácidos tartárico y málico constituyen casi la totalidad de los ácidos orgánicos (Saxton *et al.*, 2009). Según el ANDEVA no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en el contenido de humedad entre las variedades de uva roja. Las otras variables sí mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las uvas rojas y blancas.

Las uvas rojas mostraron valores más altos de TPC comparadas con las uvas blancas y las uvas *Rubired* tuvieron la concentración mayor (607.6 mg GAE 100 g⁻¹), le siguieron *Merlot* (537.1 mg GAE

Table 1. Physical-chemical variables for white and red wine grape varieties.
Cuadro 1. Variables fisicoquímicas de variedades de uva blanca y roja para vino.

	Water content	$^{\circ}$ Brix	pH	*Total acidity
White grapes				
<i>Semillon</i>	79.6 (2.2) a	17.8 (1.1) b	3.26 (0.01) b	230.63 (0.05) a
<i>Palomino</i>	86.4 (0.8) b	11.9 (0.1) a	3.09 (0.01) a	242.3 (1.7) b
<i>Sauvignon V.</i>	80.4 (0.4) a	18.6 (0.2) c	3.37 (0.01) d	247.1 (7.9) b
<i>Furmint</i>	78.8 (0.1) a	18.3 (0.1) c	3.35 (0.01) c	220.4 (1.5) a
Red grapes				
<i>P. Syrah</i>	78.9 (0.4) A	17.4 (0.2) A	3.46 (0.01) D	228.8 (5.5) A
<i>Merlot</i>	77.4 (1.6) A	18.2 (0.1) B	3.28 (0.01) B	299.1 (2.1) B
<i>Cabernet S.</i>	78.8 (1.1) A	18.3 (0.1) B	3.33 (0.01) C	219.5 (3.9) A
<i>Rubired</i>	79.6 (1.8) A	18.2 (0.1) B	2.98 (0.01) A	415.7 (3.1) C

*Total acidity: mg tartaric acid 100 g⁻¹. Different lower case letters in a column indicate statistically significant differences between white grapes (Tukey; $p \leq 0.05$). Different upper case letters indicate statistically significant differences between red grapes (Tukey; $p \leq 0.05$). ♦ *Acidez total: mg de ácido tartárico 100 g⁻¹. Letras minúsculas diferentes en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las uvas blancas (Tukey; $p \leq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las uvas rojas (Tukey; $p \leq 0.05$).

Red grapes showed higher values of TPC as compared to white grapes and the highest concentration was found in *Rubired* grapes (607.6 mg GAE 100 g⁻¹), followed by *Merlot* (537.1 mg GAE 100 g⁻¹), *Petite Syrah* (488.8 mg GAE 100 g⁻¹) and *Cabernet Sauvignon* (321.9 mg GAE 100 g⁻¹) (Figure 1).

Out of the white grape varieties, the *Furmint* grape had the highest TPC (218 mg GAE 100 g⁻¹) followed by *Palomino* (148.5 mg GAE 100 g⁻¹), *Semillon* (142 mg GAE 100 g⁻¹) and *Sauvignon Vert* (112.7 mg GAE 100 g⁻¹) (Figure 1).

The phenolic composition of grape varieties depends on several factors, such as the intrinsic potential of each grape variety (Rodríguez Montealegre *et al.*, 2006; Ruberto *et al.*, 2007; Obrique-Slier *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2015). Due to variations among cultivars, different species of grapes show diverse phenol content (Rebello *et al.*, 2013). The climate conditions are particularly important for grapevine cultivation, in which heat, drought and light intensity are some environmental factors that have an impact on the phenolic metabolism as well as grape development and chemical composition (Teixeira *et al.*, 2013). In our study, the differences between the grapes of the same colour can be attributed to grape variety because there were no climatic and geographical differences. According

100 g⁻¹), *Petite Syrah* (488.8 mg GAE 100 g⁻¹) y *Cabernet Sauvignon* (321.9 mg GAE 100 g⁻¹) (Figura 1).

Entre las variedades de uva blanca, *Furmint* tuvo el TPC mayor (218 mg GAE 100 g⁻¹), le siguió *Palomino* (148.5 mg GAE 100 g⁻¹), *Semillon* (142 mg GAE 100 g⁻¹) y *Sauvignon Vert* (112.7 mg GAE 100 g⁻¹) (Figura 1).

La composición fenólica de las variedades de uva depende de varios factores, como el potencial intrínseco de cada variedad (Rodríguez Montealegre *et al.*, 2006; Ruberto *et al.*, 2007; Obrique-Slier *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2015). Debido a las diferencias entre los cultivares, el contenido de fenoles varía entre las especies de uva (Rebello *et al.*, 2013). Las condiciones climáticas son particularmente importantes para el cultivo de la vid; el calor, las sequías y la intensidad luminosa son algunos factores ambientales que influyen en el metabolismo fenólico y en el desarrollo de la composición química de la uva (Teixeira *et al.*, 2013). En nuestro estudio, las diferencias entre uvas del mismo color se atribuyen a la variedad, ya que no hubo diferencias climáticas o geográficas. Según Mazza *et al.* (1999), los factores varietales determinan concentración, distribución y acumulación de polifenoles en las uvas. Además, los polifenoles totales en las variedades de uva blanca son menores que en las uvas rojas, ya que las variedades blancas no sintetizan antocianinas y polifenoles. Factores como tempe-

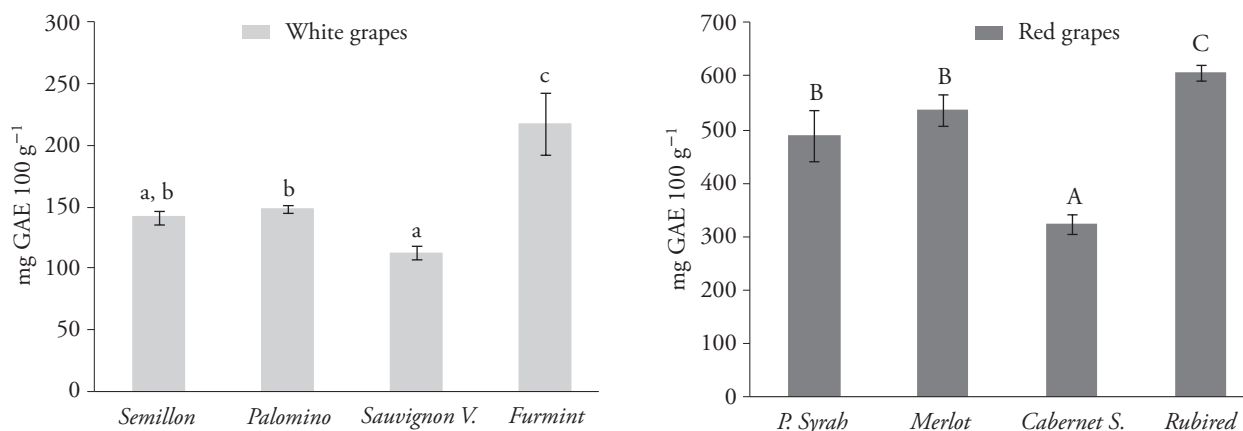


Figure 1. Values and standard deviation of the total phenol content (mg GAE 100 g⁻¹) in white and red wine grape varieties. Data are means \pm SD (n=3). Different lower case letters in bars indicate statistically significant differences between white grapes (Tukey; $p \leq 0.05$). Different upper case letters in bars indicate statistically significant difference between red grapes (Tukey; $p \leq 0.05$).

Figura 1. Contenido de fenoles totales (mg GAE 100 g⁻¹) en variedades de uva blanca y roja para vino. Los datos son medias \pm DE (n=3). Letras minúsculas diferentes en las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre uvas blancas (Tukey; $p \leq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes en las barras indican diferencia estadísticamente significativa entre uvas rojas (Tukey; $p \leq 0.05$).

to Mazza *et al.* (1999), varietal factors determine concentration, distribution and accumulation of polyphenols in grapes. Besides, total polyphenols in white grape varieties are lower than in red grapes, since white varieties do not synthesize anthocyanins and polyphenols; synthesis in grapes is influenced by factors such as temperature, water availability, sun exposure of the clusters, and time of the vintage during the berry ripening (Ivanova *et al.*, 2011). In warmer climates, high light exposure can increase the concentration of phenolics and anthocyanins (Roubelakis-Angelakis and Kliewer, 1986). Sun exposure is considered to be of primary importance for high quality wine production. However, it is not clear whether the effect on fruit composition is due to visible light or ultraviolet light or both (Keller and Torres-Martinez, 2004; Schreimer *et al.*, 2012). In the vineyard, *e.g.*, any cultural practices that favor the exposure of grape bunches to sunlight boost flavonol accumulation. This occurs equally in white and red grapes (Teixeira *et al.*, 2013).

Merlot was 37 % higher in GAE compared with those reported by Abe *et al.* (2007) who found 337 mg GAE 100 g⁻¹. Panceri *et al.* (2014) reported 89 % less (59.28 mg GAE 100 g⁻¹) and Burin *et al.* (2014) 85 % less (83.1 mg GAE 100 g⁻¹). Also, for the *Cabernet Sauvignon* variety a difference of 79.1 % and 76 % was observed in total phenol content, as compared with those reported by Panceri *et al.* (2014) and Burin *et al.* (2014), 67.4 and 76.5 mg GAE 100 g⁻¹, respectively. Regarding *Petite Syrah* grape, the results in our study differed by 21 % with those published by Abe *et al.* (2006) (388 mg GAE 100 g⁻¹).

For AC, red grapes showed a higher capacity ($\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$) than white grapes, regardless of the method used (DPPH *vs.* ABTS) (Table 2). Among the red grapes, *Petite Syrah* showed the highest AC ($\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$), followed by *Merlot*, *Cabernet Sauvignon* y *Rubired* varieties. In white grapes, *Palomino* showed the highest AC when tested by ABTS method, and *Furmint* with the DPPH method. For *Cabernet Sauvignon*, AC values were 191.1 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ with the DPPH method and 213 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ with the ABTS assay (Burin *et al.*, 2014), whereas Panceri *et al.* (2014) reported 182.2 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ with the DPPH and 195 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ with ABTS. For *Merlot*, AC values were 166.6 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$

ratura, disponibilidad de agua, exposición al sol de los racimos y tiempo de la vendimia durante la maduración de las bayas influyen en la síntesis de esos compuestos en las uvas (Ivanova *et al.*, 2011). En los climas más cálidos, la exposición alta a la luz puede aumentar la concentración de fenoles y antocianinas (Roubelakis-Angelakis y Kliewer, 1986). La exposición al sol se considera de primordial importancia para la producción de vino de alta calidad. Pero no está claro si el efecto sobre la composición de los frutos depende de la luz visible, de la luz ultravioleta, o de ambas (Keller y Torres-Martinez, 2004; Schreimer *et al.*, 2012). Por ejemplo, cualquier práctica cultural que favorezca la exposición de los racimos de uva a la luz solar en el viñedo aumenta la acumulación de flavonoles. Esto ocurre igualmente en las uvas blancas y rojas (Teixeira *et al.*, 2013).

Merlot mostró 37 % más GAE que lo reportado por Abe *et al.* (2007), quienes determinaron 337 mg 100 g⁻¹. Panceri *et al.* (2014) reportaron valores 89 % (59.28 mg GAE 100 g⁻¹) y Burin *et al.* (2014) 85 % (83.1 mg GAE 100 g⁻¹) menores. Además, en la variedad *Cabernet Sauvignon* se observó diferencia de 79.1 % y 76 % en TPC respecto a lo reportado por Panceri *et al.* (2014) y Burin *et al.* (2014) de 67.4 y 76.5 mg GAE 100 g⁻¹, respectivamente. Los resultados de nuestro estudio en la uva *Petite Syrah* difirieron en 21 % respecto a los de Abe *et al.* (2006) (388 mg GAE 100 g⁻¹).

Las uvas rojas mostraron AC mayor ($\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$) que las uvas blancas, independiente del método utilizado (DPPH o ABTS) (Cuadro 2). Entre las uvas rojas, *Petite Syrah* presentó AC mayor, le siguieron las variedades *Merlot*, *Cabernet Sauvignon* y *Rubired*. Entre las uvas blancas, *Palomino* mostró AC mayor cuando se evaluó por el método ABTS, y *Furmint* con el método DPPH. Los valores de AC para *Cabernet Sauvignon* fueron 191.1 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ con el método DPPH y 213 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ con el método ABTS (Burin *et al.*, 2014), mientras que Panceri *et al.* (2014) obtuvo 182.2 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ con el método DPPH y 195 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ con ABTS. Los valores CA de *Merlot* fueron 166.6 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ utilizando DPPH y 231.6 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ con ABTS (Panceri *et al.*, 2013).

Cabe destacar que los valores menores de AC en todas las variedades se cuantificaron con el método ABTS. Pero los estudios de Burin *et al.* (2014) con

Table 2. Values and standard deviation of antioxidant capacity (mg TEAC 100 g⁻¹) in white and red wine grapes varieties.
Cuadro 2. Valores y desviación estándar de la capacidad antioxidante (mg TEAC 100 g⁻¹) de variedades de uva blanca y roja para vino.

	ABTS	DPPH
	$\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$	
White grapes		
<i>Semillon</i>	4.309 (0.003) a	59.425 (1.352) a
<i>Palomino</i>	4.377 (0.014) b	64.001 (0.726) b
<i>Sauvignon Vert</i>	4.373 (0.007) b	57.232 (0.588) a
<i>Furmint</i>	4.310 (0.018) a	64.549 (0.424) b
Red grapes		
<i>P. Syrah</i>	152.851 (3.843) C	1716.580 (31.907) C
<i>Merlot</i>	121.932 (13.793) A	1502.114 (46.385) B
<i>Cabernet S.</i>	124.406 (5.572) A,B	1738.962 (101.905) C
<i>Rubired</i>	148.956 (12.613) B,C	505.884 (63.9) A

Different lower case letters in a column indicate statistically significant differences between white grapes (Tukey; $p \leq 0.05$). Different upper case letters in a column indicate statistically significant differences between red grapes (Tukey; $p \leq 0.05$). ✦ Letras minúsculas diferentes en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las uvas blancas (Tukey; $p \leq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre las uvas rojas (Tukey; $p \leq 0.05$).

using DPPH and 231.6 $\mu\text{mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ with ABTS (Panceri *et al.*, 2013).

It is noteworthy that lower values were quantified in AC when the ABTS method was used in all varieties. However, studies carried out by Burin *et al.* (2014) on red and white grapes from *V. vinifera* L. and *V. labrusca* L. varieties, Xu *et al.* (2010) on white and red grapes, Burin *et al.* (2011) on red wine, and Toaldo *et al.* (2013) on grape juice indicated higher values for the antioxidant activity using the ABTS method.

In our study, AC with the ABTS method shows a stronger correlation ($R^2=0.8304$) with TPC (Figure 2), and the mathematical model proved well adjusted for TPC and AC. This goes along with the results of Tagliazucchi *et al.* (2010), who verified that the antioxidant capacity of grapes is dependent on the phenolic composition. However, a lower correlation between TPC with DPPH method ($R^2=0.415$) was found.

The biological properties of phenolic compounds include antibacterial, antifungal effects, as well as cardioprotective, anticancer actions. The composition of phenolics in grapes changes with variety, species, season, environmental and

uvas rojas y blancas, de variedades de *V. vinifera* L. y *V. labrusca* L., Xu *et al.* (2010) con uvas blancas y rojas, Burin *et al.* (2011) con el vino tinto y Toaldo *et al.* (2013) con jugo de uva indicaron valores mayores de actividad antioxidante usando el método ABTS.

En nuestro estudio, AC con el método ABTS mostró correlación mayor ($R^2=0.8304$) con TPC (Figura 2), y el modelo mostró un buen ajuste para TPC y AC. Esto concuerda con los resultados de Tagliazucchi *et al.* (2010), quienes verificaron que la capacidad antioxidante de las uvas depende de la composición fenólica. En contraste, la correlación entre TPC y DPPH fue menor ($R^2=0.415$).

Las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos incluyen efectos antibacterianos, antimicóticos, y acciones cardioprotectoras y anticancerígenas. La composición de los fenoles en las uvas cambia con la variedad, la especie, la estación y los factores ambientales y de manejo, como las condiciones del suelo, el clima y la carga de los cultivos. El contenido de fenol totales influye en AC de los productos derivados de uva, que a la vez depende principalmente de la variedad de uva (Burin *et al.*, 2014). Aunque, Nixdorf y Hermosín-Gutiérrez (2010) observaron lo

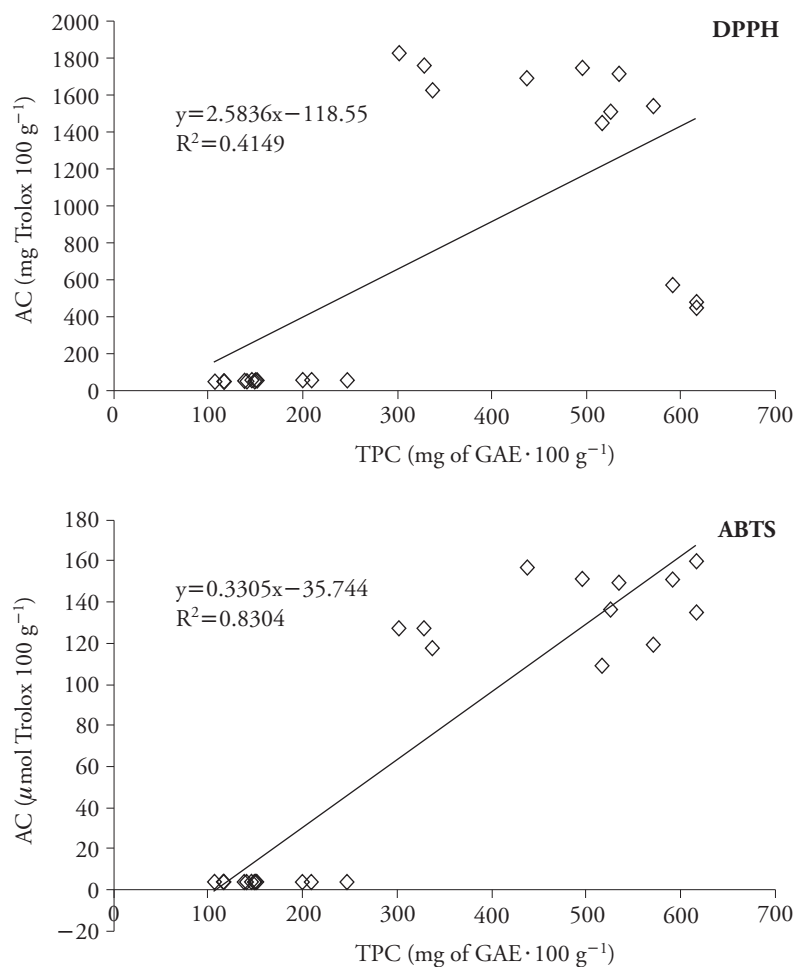


Figure 2. Relationship between antioxidant capacity ($\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$) and total phenolic compounds ($\text{mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$) of white and red wine grape varieties.

Figura 2. Relación entre capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$) y compuestos fenólicos totales ($\text{mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$) de variedades de uva blanca y roja para vino.

management factors such as soil conditions, climate and crop load. The AC of grape-derived products is affected by their total phenol content, which is influenced mainly by the grape variety (Burin *et al.*, 2014). However, Nixdorf y Hermosín-Gutiérrez (2010) observed just the opposite, a lack of correlation and a negative correlation between total phenol content and AC.

CONCLUSIONS

Grape varieties adapted to the climatic conditions of the city of Zacatecas resulted in similar or even higher values in the total phenolic content and antioxidant activity compared to those published

contrario, ausencia de correlación y correlación negativa entre TPC y AC.

CONCLUSIONES

Las variedades de uva adaptadas a las condiciones climáticas de la ciudad de Zacatecas mostraron valores similares o incluso mayores en TPC y AC que los publicados por otros autores en uvas de otros países. El contenido de fenoles totales fue significativamente mayor en las variedades *Rubired* de color rojo y en las blancas de *Furmint*. Entre todas las muestras, las variedades de uva roja, en especial *Petite Syrah* y *Rubired*, tuvieron potencial antioxidante mayor, asociado a su contenido mayor de compuestos bioac-

by other authors for grapes from other countries. The total phenol content was significantly higher in red varieties of *Rubired*, and white varieties of *Furmint*. Among all the samples, it was observed that red grape varieties, especially *Petite Syrah* and *Rubired* had a higher antioxidant potential, which is associated to their higher content of bioactive compounds. The antioxidant activity showed a good correlation with TPC. The grape varieties analyzed represent a suitable choice for cultivating wine grapes in Zacatecas. This would help to diversify the types of wines produced in that State.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the Research and Food Safety Laboratory of the Nutrition Department of the Autonomous University of Zacatecas for their technical support and allowing us the use of their facilities.

LITERATURE CITED

- Abe, L. T., R. Vieria-Da Mota, F. M. Lajolo, and M. I. Genovese. 2007. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars. *Food Sci. Technol. (Campinas)* 27: 394-400.
- AOAC, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Blouin, J., y G. Guimberteau. 2003. *Maduración y Madurez de la Uva*. Mundiprensa, Madrid. 157 p.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 22: 25-30.
- Burin, V. M., L. L. F. Costa, J. P. Rosier, and M. T. Bordignon-Luiz. 2011. Cabernet Sauvignon wines from two different clones, characterization and evolution during bottle ageing. *LWT-Food Sci. Technol.* 44: 1931-1938.
- Burin, V. M., N. E. Ferreira-Lima, C. P. Panceri, and M. T. Bordignon-Luiz. 2014. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. *Microchem. J.* 114: 155-163.
- Costa, E., J. F. da Silva, F. Cosme, and A. M. Jordão. 2015. Adaptability of some French red grape varieties cultivated at two different Portuguese terroirs: Comparative analysis with two Portuguese red grape varieties using physicochemical and phenolic parameters. *Food Res. Int.* 78: 302-312.
- Dorey E., P. Fournier, M. Léchaudel, and P. Tixier. 2016. A statistical model to predict titratable acidity of pineapple during fruit developing period responding to climatic variables. *Sci Hort.* 210: 19-24.
- Einbond, L. S., K. A. Reynertson, X. D. Luo, M. J. Basile, and E. J. Kennelly. 2004. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chem.* 84: 23-28.
- Etienne, A., M. Genard, P. Lobit, D. Mbeguie-A-Mbeguie, and C. Bugaud. 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *J. Exp. Bot.* 64 (6), 1451-1469.
- Fanzone, M., F. Zamora, V. Jofré, M. Assof, C. Gómez-Cordovés, and A. Peña-Neira. 2012. Phenolic characterisation of red wines from different grape varieties cultivated in Mendoza province (Argentina). *J. Sci. Food Agric.* 92: 704-718.
- Gris, E. F., F. Mattivi, E. A. Ferreira, U. Vrhovsek, R. C. Pedrosa, and M. T. Bordignon-Luiz. 2011. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. *Food Chem.* 126: 213-220.
- Ivanova V., M. Stefova, B. Vojnoski, Á. Dörnyei, L. Márk, V. Dimovska, T. Stafilov, and F. Kilár. 2011. Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown in R. Macedonia and changes of their content during ripening. *Food Res. Int.* 44: 2851-2860.
- Keller M., and N. Torres-Martinez. 2004. Does UV radiation affect winegrape composition? *Acta Hort.* 640: 313-319.
- Li, B. B., B. Smith, and Md. M. Hossain. 2006. Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Sep. Purif. Tech.* 48: 189-196.
- Mazza, G., L. Fukumoto, P. Delaquis, B. Girard, and B. Ewert. 1999. Anthocyanins, phenolics, and colour of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4009-4017.
- Mulero J., G. Martínez, J. Oliva, S. Cermeño, J. M. Cayuela, P. Zafrilla, A. Martínez-Cachá, and A. Barba. 2015. Phenolic compounds and antioxidant activity of red wine made from grapes treated with different fungicides. *Food Chem.* 180: 25-31.
- Nixdorf, S. L., and I. Hermosín-Gutiérrez. 2010. Brazilian red wines made from the hybrid grape cultivar Isabel: phenolic composition and antioxidant capacity. *Anal. Chim. Acta.* 659: 208-215.
- Obrique-Slier, E., R. López-Solís, L. Castro-Ulloa, C. Romero-Díaz, and Peña-Neira, A. 2012. Phenolic composition and physicochemical parameters of Carménère, Cabernet Sauvignon, Merlot and Cabernet Franc grape seeds (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *LWT-Food Sci. Technol.* 48: 134-141.
- Panceri, C. P., T. M. Gomes, J. S. De Gois, D. L. G. Borges, and M. T. Bordignon-Luiz. 2013. Effect of dehydration process on mineral content, phenolic compounds and antioxidant activity of Cabernet Sauvignon and Merlot grapes. *Food Res. Int.* 54: 1343-1350.

—Fin de la versión en Español—



- Puértolas, E., G. Saldaña, S. Condón, I. Álvarez, and J. Raso. 2010. Evolution of polyphenolic compounds in red wine from Cabernet Sauvignon grapes processed by pulsed electric fields during aging in bottle. *Food Chem.* 119: 1063-1070.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggemnte, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26: 1231-1237.
- Rebello, L. P. G., E. S. Lago-Vanzela, M. T. Barcia, A. M. Ramos, P. C. Stringheta, R. DaSilva, N. Castillo-Muñoz, S. Gómez-Alonso, and I. Hermosín-Gutiérrez. 2013. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea×IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Food Res. Int.* 54: 354-366.
- Rodríguez-Montealegre, R., R. Romero-Peces, J. L. Chacón-Vozmediano, J. Martínez-Gascuña, and E. García-Romero. 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *J. Food Compos. Anal.* 19: 687-693.
- Roubelakis-Angelakis K. A., and W. M. Kliever. 1986. Effects of exogenous factors on phenylalanine ammonia-lyase activity and accumulation of anthocyanins and total phenolics in grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 37: 275-280.
- Ruberto, G., A. Renda, C. Daquino, V. Amico, C. Spatafora, C. Tringali, and N. De Tommasic. 2007. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. *Food Chem.* 100: 203-210.
- Saxton, V. P., G. L. Creasy, A. M. Paterson, M. C. T. Trought. 2009. Behavioral responses of European blackbirds and Australasian silvereyes to varying acid and sugar levels in artificial grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 60: 82-86.
- Schreiner M., I. Mewis, S. Huyskens-Keil, M. A. K. Jansen, R. Zrenner, J. B. Winkler, N. O'Brien, and Krumbain A. 2012. UV-B-induced secondary plant metabolites-Potential benefits for plant and human health. *Crit. Rev. Plant Sci.* 31: 229-240.
- Šeruga, M., I. Novak, and L. Jakobek. 2011. Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chem.* 124: 1208-1216.
- Soares, S. E. 2002. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutrição*, 15: 71-81.
- Subramani, S., C. A. Casimir, and G. Krewer. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2432-2438.
- Tagliazucchi D., E. Verzelloni, D. Bertolini, and A. Conte. 2010. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 120: 599-606.
- Teixeira, A., J. Eiras-Dias, S. D. Castellarin, and H. Gerós. 2013. Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 18711-18739.
- Toaldo, I. M., O. Fogolari, G. C. Pimentel, J. S. Gois, D. L. G. Borges, V. Caliar, and M. T. Bordignon-Luiz. 2013. Effect of grape seeds on the polyphenol bioactive content and elemental composition by ICP-MS of grape juices from *Vitis labrusca* L. *LWT-Food Sci. Technol.* 53: 1-8.
- Tomás-Barberán, F. A., M. I. Gil, P. Cremin, A. L. Waterhouse, B. Hess-Pierce, and A. A. Kader 2001. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4748-4760.
- Xu C., Y. Zhang, L. Cao, and J. Lu. 2010. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chem.* 119: 1557-1565.